Ueber das
Vorkommen von Mikroorganismen
in Ergotinlösungen.

Inaugural-Dissertation

verfasst und der

hohen medicinischen Facultät

der

königl. Julius-Maximilians-Universität Würzburg

zur

Erlangung der Doctorwürde

in der

Medicin, Chirurgie und Geburtshülfe

vorgelegt von

Hermann Leopard

aus Melbach (Hessen).

Würzburg.

Paul Scheiner's Buchdruckerei.

1887.

Referent: Herr Hofrath Professor Dr. Rindfleisch.

Meinen

theuren Geschwistern

als ein

Zeichen der Liebe und Dankbarkeit

gewidmet

vom Verfasser.

Subcutane Injectionen von Ergotinlösungen rufen zuweilen Entzündungserscheinungen hervor, selbst dann wenn dieselben unter allen antiseptischen Cautelen vorgenommen wurden. Die Ursache hiervon ist offenbar in einer Zersetzung der Ergotinlösung zu suchen, die nach den Untersuchungen von *Engelmann**) durch Mikroorganismen bedingt ist.

Die Versuche *Engelmann*'s, der zunächst die Constituentien, Ergotin in reiner Form und destillirtes Wasser, gesondert untersuchte, ergaben was reines Ergotin angeht eine grosse Verschiedenheit in dem Verhalten der einzelnen Proben. *Engelmann* sucht dies durch die Annahme zu erklären, dass das Praeparat an und für sich keine Organismen enthält, dass es aber bei der Dispensation in ungenügend gereinigten Gläsern inficirt wird.

Die zahlreichen Untersuchungen von destillirtem Wasser lieferten das analoge Resultat, dass sich in alten Proben meist eine grosse Menge von Pilzen befand.

Dementsprechend fanden sich auch in Lösungen von Ergotin in destillirtem Wasser in allen Fällen Mikroorganismen in verschiedner Menge, was sich nach *Engelmann* daraus erklärt, dass das Wasser in verschiedenem Grade mit Pilzen verunreinigt gewesen.

---

*) Deutsche medic. Wochenschrift 1886, Nr. 39, S. 673 u. ff.

Die sich jetzt aufwerfende Frage nach der Möglichkeit, die Zersetzung in Ergotinlösungen durch Zusatz antiseptisch wirkender Mittel und zwar in solcher Menge, „dass sie bei längerer Anwendung nicht schädlich auf den Organismus und an und für sich auch nicht zu reizend wirken“ zu verhindern musste *Engelmann* nach seinen Versuchen von 0,5—2% Carbolsäure, 0,5% Salicylsäure und von Glycerin in gleichen Teilen mit Wasser in verneinendem Sinne beantworten. Selbst ein nur aus theoretischen Gründen geprüfter Zusatz von 1‰ Sublimat war nicht imstande, die Entwicklung von Spalt- und Schimmelpilzen aufzuheben, sondern vermochte sie auffallenderweise nur in geringem Grade zu hemmen.

Nur durch Sterilisieren der Mischung, die in der Weise geschah, dass die vorher sterilisierten Gläschen gefüllt und dann 1 Stunde lang im Dampfapparat strömendem Wasserdampf ausgesetzt oder 1 Stunde lang in stark kochendes Wasser gehalten wurden, konnte die Zersetzung für kürzere Zeit verhindert werden, während „für längere Zeit auch dadurch keine Garantie geboten wurde.“

Da es nun von grossem praktischen Interesse ist, wenn möglich eine überhaupt Mikrobenfreie Ergotinlösung herzustellen, hielt es Privatdocent Dr. *Bumm* für wünschenswert eine Prüfung der an der Würzburger Frauenklinik gebräuchlichen Ergotinlösung, in welcher Ergotin in Aqua destillata und Spiritus dilutus $\overline{aa}$ suspendirt ist, vorzunehmen und bewog mich desshalb, eine Reihe von Untersuchungen dieser Lösung anzustellen, wobei es zweckmässig erschien, die Versuche über Vorkommen

von Mikroorganismen in wässrigen Ergotinlösungen zu wiederholen.

Sämmtliche zur Untersuchung gekommenen Lösungen waren 10 procentig, mit Ausnahme von zweien, in denen Ergotin im Verhältniss zu 1 : 6 dispensirt war. Die Uebertragung derselben auf Agar-Agar geschah mit Ausnahme der besonders angegebenen Fälle immer mit der geglühten Platinnadel. Die geimpften Gläser wurden in den Wärmeofen gesetzt, dessen Temperatur sich constant auf 37—38 ^{0} C. hielt, und jedesmal nach 24 Stunden controlliert.

Von der ersten Lösung nun, die am 17. I. 87 dispensirt war, wurden nach 1 Tag drei Impfungen mit je 1, nach 2 Tagen zwei solche mit je 3, nach 3 Tagen drei mit je 9 und nach 5 Tagen eine mit 9 Tropfen auf Agar-Agar vorgenommen, ohne dass selbst nach Tagen eine Pilzcultur zur Entwicklung kam. Dagegen zeigten drei am 24. I., also nach 7 Tagen ein mit 5 und ein nach 8 Tagen mit nur 2 Tropfen geimpfter Nährboden, ebenso wie einige noch später am 5. II. und 7. II. vorgenommene Impfungen schon nach 24 Stunden eine reichliche Pilzentwicklung.

Ob die Mikroorganismen sich schon von vornherein in der Mischung befanden und erst nach 7 Tagen zu reichlicherer Entwicklung gekommen waren, oder ob sie bei dem zur Uebertragung unvermeidlichen Oeffnen aus der Luft in dieselbe erst hineingelangt sind, will ich nicht entscheiden. Jedenfalls würde die ohne Uebergang erfolgte, sofort sehr reichliche Pilzwucherung, selbst bei der Uebertragung einer beträchtlich kleineren Quantität der Lösung als vorher, sowie die sofortige Ent-

wicklung von Mikroben bei längerem Offenstehen des Glases, was sich bei dem folgenden Versuche herausstellte, für die letztere Ansicht sprechen.

Von einer Trennung und Reinzüchtung der einzelnen Mikroorganismen glaubte ich desshalb Abstand nehmen zu dürfen, weil *Engelmann* eine sehr ausführbare Beschreibung der von ihm in Ergotinlösungen gefundenen 33 verschiedenen Bakterien und Coccen in der erwähnten Arbeit gegeben hat.

Mit den Versuchen über die zweite Lösung wurde des Vergleichs wegen die einer dritten verbunden, in welcher das Ergotin in Aqua dest. und Spiritus dilutus $\overline{\text{aa}}$ gelöst war. Die Mischungen waren am 31. I. 87 dispensirt. Zwei Impfungen aus jeder derselben von je 10 Tropfen auf Agar-Agar an demselben und eine solche am folgenden Tage ergaben durch ein negatives Ergebnis den Beweis, dass beide pilzfrei waren. Nun blieben beide Lösungen 36 Stunden unverschlossen stehen. Die darauf erfolgende Ueberimpfung ergab ein für beide verschiedenes Resultat. Nach 36 Stunden wurden von jeder Lösung am 3. II., also 3 Tage nach der Dispensation, je 2 Agar-Agarnährböden mit 5 resp. 10, am 4. II. je einer mit 10 und am 5. II. je zwei mit 10 Tropfen geimpft.

Während sich nun in den mit der wässrigen Ergotinlösung geimpften Gläsern in allen Fällen nach 24 h zahlreiche Pilzcolonieen zeigten, blieben diejenigen, die mit der spirituösen Lösung geimpft waren, obwohl sie längere Zeit hindurch im Wärmeofen stehen blieben, vollständig frei und unverändert. Da beide Lösungen sich in demselben Raume befinden und genau unter

denselben Verhältnissen gestanden hatten, so müssen also die doch offenbar auch in die spirituöse Lösung gekommenen Pilzkeime nicht zu weiterer Entwicklung in derselben haben gelangen können, sondern darin zu Grunde gegangen sein.

Dies Resultat wurde auch durch die folgenden Versuche bestätigt. Um zu erfahren, wie lange solche Ergotinlösungen pilzfrei bleiben, untersuchte ich weiter zwei spirituöse Lösungen, von denen die eine am 14. XI. 86 hergestellt, also etwas über 2 Monate und die andere ungefähr 1 Jahr alt war. Der Tag der Dispensation der letzteren war nicht ganz genau zu bestimmen. In diesen beiden Fällen war Ergotin im Verhältniss von 1 : 6 gelöst. Von beiden Mischungen wurden zunächst je 1 Tropfen mit der Platinnadel und dann je 5 Tropfen mit einer desinficierten Pravaz'schen Spritze auf Agar-Agar gebracht und später von jeder Lösung noch zweimal immer je 10 Tropfen mit der Nadel überimpft. Sämmtliche Culturen blieben über 10 Tage im Wärmeschrank, aber keine derselben zeigte eine Veränderung des Substrates. Daraus geht also deutlich hervor, dass die angegebene spirituöse Ergotinlösung nicht nur in frischem Zustande pilzfrei ist, sondern für lange Zeit die Eigenschaft behält, keinerlei in dieselbe gelangte Mikroorganismen — und das darf von unseren beiden Lösungen, die häufig gebraucht und zu dem Zwecke natürlich geöffnet wurden, doch als sicher angenommen werden, dass solche hineingelangt sind — zu weiterer Entwicklung kommen zu lassen.

Es blieb nunmehr noch die interessante Frage offen, ob auch pathogene Mikroorganismen sich in

Ergotinlösungen vermehren, eventuell welche Zusätze antiseptischer Mittel genügen, ihre Entwicklung darin zu verhindern. Zur Entscheidung derselben wurde der Staphylococcus pyogenes aureus zunächst auf eine wässrige, dann auf die spirituöse Lösung, nachdem sie vorher sterilisiert worden war, überimpft.

Die Sterilisation geschah in der Weise, dass die mit der Ergotinlösung etwa zum dritten Teile gefüllten Gläser im Wasserbade 5 Tage nach einander je 1 Stunde lang auf eine Temperatur von 100° C. erhitzt wurden. Die Lösung erfuhr dadurch während dieser Zeit und auch später keinerlei Veränderung weder in Aussehen noch in Reaction. Bei der Sterilisation der spirituösen Lösung wurde so verfahren, dass eine 20% wässrige Ergotinlösung in der eben angegebenen Weise sterilisiert und danach genau dieselbe Quantität Spiritus dilutus, der ja pilzfrei ist, zugesetzt wurde, sodass daraus die zu untersuchende 10% sterilisierte Lösung von Ergotin in destillirtem Wasser und Spiritus dilutus zu gleichen Teilen entstand.

In die so sterilisierten Ergotinlösungen wurde der Staphylococcus aureus von einer Reincultur übertragen. Es wurden 2 Serien von Impfungen angestellt und jedesmal je 4 mit der betreffenden Lösung gefüllte Reagensgläser geimpft; und zwar wurde bei der ersten mit der geglühten Platinnadel 1 Tropfen von der Reincultur, bei der zweiten nur eine ganz minimale Quantität derselben genommen. Die geimpften Gläser wurden in den Wärmeofen gesetzt und immer nach 24 Stunden aus ihnen auf Agar-Agar geimpft und mikroscopisch

das Vorhandensein resp. Nichtvorhandensein von Mikroorganismen festgestellt.

Auch hier fielen die Resultate der Impfung in beide Lösungen verschieden aus. Von der wäsrigen nach 24 Stunden angefertigte mikroscopische Präparate ergaben eine deutliche Entwicklung von Organismen und nach 48 Stunden zeigte jedes Gesichtsfeld zahlreiche Coccen. Dieselben sind bei der gewöhnlichen Färbung mit Fuchsin nicht ganz leicht zu erkennen, weil die Ergotinmoleküle, die zum Teil den Farbstoff aufnehmen, störend wirken.

Ein etwaiges Vorhandensein anderer Organismen war aber aus dem Grunde auszuschliessen, weil die jedesmal gleichzeitig erfolgende Ueberimpfung aus den geimpften Gläsern auf Agar-Agar wieder die charakteristische Cultur des Staphylococcus aureus ergab und nichts Anderes.

Auch die mit einer nur sehr geringen Quantität der Reincultur geimpften Gläser zeigten sowohl mikroscopisch, als bei der Ueberimpfung aus denselben auf Agar-Agar eine nach 24 ^{h} deutliche und nach 48 ^{h} schon sehr zahlreiche Entwicklung von Mikrococcen.

Dahingegen ergaben alle von den spirituösen Lösungen zu denselben Zeiten hergestellten mikroscopischen Praeparate ein Fehlen jeglicher Organismen und ebenso zeigten die Impfungen aus denselben auf Agar-Agar, die auch jedesmal vorgenommen wurden, selbst nach Tagen an dem Substrate keine Aenderung. Womit der Beweis erbracht ist, dass auch pathogene Mikroorganismen in unserer spirituösen Ergotinlösung sich nicht entwickeln können, sondern darin zu Grunde gehen.

Wir können also die Ergebnisse *Engelmann*'s, was wässrige Ergotinlösungen angeht, nur bestätigen. Dahingegen beweisen die vorliegenden Untersuchungen deutlich, dass in der angegebenen spirituösen Lösung, in welcher Ergotin in Aqua destillata und Spiritus dilutus āā aufgelöst ist, eine bakterienfreie Ergotinlösung gegeben ist, die andererseits auch bei längere Zeit hindurch fortgesetztem, subcutanem Gebrauch weder den Organismus schädigt, noch lokal zu reizende Wirkungen hervorruft.

Am Schlusse meiner Arbeit erlaube ich mir, Herrn Privatdocenten Dr. Bumm für die gütige Ueberweisung dieses Themas sowie für die freundliche Unterstützung, die er mir zu Teil werden liess, meinen aufrichtigen Dank auszusprechen.